

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Interní oddělení Strahov, 1. LF UK a VFN Praha

Bakalářská práce

Srovnávací studie měření aktivovaného srážecího času koagulometrem

Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature.

Comparative study of measurement of activated clotting time with Hemochron

400/401 and Hemochron Jr. Signature coagulometers.

Autor:

Petr Mašek

Obor:

Zdravotnická technika

Vedoucí práce:

Doc. Ing. František Lopot, CSc.

Oponent:

Doc. MUDr. Ivan Rychlík, CSc., FASN

Rok vypracování:

2007

Poděkování:

Tímto bych rád poděkoval Doc. Ing. Františku Lopotovi, CSc. za vedení práce, za rady a připomínky, které mi velmi pomohly při psaní bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat všem pracovníkům na oddělení, za ochotu a pomoc při práci a to především staniční sestře Andreje Kesziové a sestře Evě Jarošové.

Čestné prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl v seznamu použité literatury. Dále prohlašuji, že souhlasím s půjčováním nebo zveřejňováním této práce.

V Praze dne 25. 5. 2007

.....

Petr Mašek

Obsah

Abstrakt	5
1. Úvod	7
2. Srážení krve	7
3. Heparin	9
4. Měření srážlivosti krve	10
5. Aktivovaný srážecí čas (ACT – Activated Clotting Time)	11
6. Způsoby heparinizace při hemodialýze	11
7. Koagulometry	13
7.1 Hemochron 400/401	13
7.2 Hemochron Jr. Signature+	14
8. Stanovení dávek heparinu	16
8.1 Empirické dávkování heparinu	17
8.2 Model kinetiky heparinu	17
9. Měření ACT s přístroji Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature+	21
9.1 Postup při měření, metodika	21
9.2 Výsledky měření	21
9.2.1 Reprodukovatelnost měření	22
9.2.2 Vzájemná korelace	26
9.2.3 Citlivost na heparin	27
9.2.4 Koagulační parametry pacienta	27
9.2.5 Dávkování heparinu na základě kinetických parametrů	32
10. Diskuse	34
11. Závěr	36
12. Použitá literatura	37
13. Seznam příloh	38

Abstrakt

Cílem práce je, vzhledem k předpokládanému přechodu od současného monitorování heparinizace při hemodialýze aktivovaným srážecím časem ACT (Activated Clotting Time) pomocí zkumavek P215 na inovované kyvety ACT-LR (Activated Clotting Time – Low Range), ověření nových časů ACT získaných pomocí kyvet ACT-LR určených pro koagulometr Hemochron Jr. Signature+.

V této studii se zjišťovala charakteristika nového srážecího času ACT ve srovnání s dosud používaným testem. Jednotlivé hodnoty ACT P215 se získaly pomocí koagulometru Hemochron 400 a hodnoty ACT-LR Hemochronem Jr. Signature+. Celkově byly změřeny srážecí časy u 36 nemocných a na získaných hodnotách byla ověřena použitelnost základního modelu kinetiky heparinu stanovením základních koagulačních parametrů, mezi které patří základní srážecí čas, citlivost na heparin a eliminační konstanta. Pro ověření spolehlivosti přístrojů se pro každý z koagulometrů vyhodnotila reprodukovatelnost dvojím bezprostředně po sobě následujícím měřením vzorku krve. U obou přístrojů bylo dosaženo velmi dobrých výsledků. Zjišťovala se také korelace mezi Hemochronem 400 a Hemochronem Jr. Signature+ měřením jednoho vzorku krve zároveň v obou přístrojích. Vysoký korelační koeficient potvrdil praktickou rovnocennost výsledků mezi uvedenými přístroji. Dále byly zjištěné hodnoty použity u pacientů na intermitentní heparinizaci při hemodialýze k výpočtu dávek heparinu a to jak pro intermitentní tak i pro kontinuální heparinizaci. Z těchto dávek pak již bylo jednoduché stanovit celkovou podanou dávku heparinu během hemodialýzy, která u intermitentní heparinizace byla 2x vyšší než u heparinizace kontinuální. Z toho vyplývá, že vzhledem k nežádoucím účinkům heparinu a menšímu kolísání hladiny heparinu v krvi by bylo vhodné všechny pacienty převést na kontinuální heparinizaci.

Výsledky této studie vypovídají, že použitelnost starého a nového systému je zcela srovnatelná. Nový systém rozhodně nemá tak velké výhody, aby to ospravedlnilo výrazně vyšší cenu kyvet. Hemochron Jr. Signature+ sice dosáhl oproti Hemochron 400/401 lepších výsledků v reprodukovatelnosti měření, ale naopak se ukázala mírně nižší citlivost na heparin. Pokud ovšem začne výrobce dodávat k novému systému kyvetu pro měření srážecího času při použití nízkomolekulárního heparinu, získá nový Hemochron Jr. Signature+ velkou výhodu.

Klíčová slova: *Hemochron 400/401, Hemochron Jr. Signature+, activated clotting time (ACT), activated clotting time-low range (ACT-LR).*

Abstract

The purpose of the study is to assess new ACT (Activated Clotting Time) times obtained via new ACT-LR (Activated Clotting Time - Low Range) cuvettes designated for Hemochron Jr. Signature+ due to supposed transition from P215 test tubes used to date to the innovated ACT-LR cuvettes.

We compared characteristics of new ACT clotting time and ACT that is currently in use. P215 ACT and ACT-LR values were obtained in 36 patients using Hemochron 400 and Hemochron Jr. Signature+, respectively. From these values the applicability of basic model of heparin kinetics was verified by determining basic coagulation parameters including baseline clotting time, heparin sensitivity and elimination rate constant. Reproducibility of both methods was evaluated by duplicate measurements and expressed as variation coefficient (VC) to assess the reliability of both coagulation systems which proved to be very high in both systems. Mutual correlation between Hemochron 400/401 and Hemochron Jr. Signature+ was determined by testing one blood sample in both coagulometers. High correlation coefficient confirmed equivalence of results obtained from both methods. Established ACT values were used to determine heparin dosage for continual heparinization during hemodialysis which is supposed to be applied instead of intermittent heparinization. As final heparine dose required was in case of intermittent heparinization two times higher than dose applied during continual heparinization, continual heparinization shows to be more suitable for patients because adverse heparin reactions and its oscillating blood level are decreased during the continual administration of heparin.

According to the results of this study, the applicability of both old Hemochron 400/401 and new Hemochron Jr. Signature+ is wholly comparable. Slightly lower sensitivity found in Hemochron Jr. Signature+ is compensated by its higher reproducibility. However, the new system is not advantageous enough to justify to markedly higher price of the ACT-LR cuvettes. If the producer starts to provide cuvettes designed for low-molecular heparin clotting time measurement, the new system will gain considerable advantage.

Key words: *Hemochron 400/401, Hemochron Jr. Signature+, Activated Clotting Time (ACT), Activated Clotting Time – Low Range (ACT-LR).*

1. Úvod

V dnešní době žije v České republice více jak 7500 pacientů díky některé z náhrad ledvinné funkce (hemodialýza, peritoneální dialýza, fungující transplantát) s chronickým renálním selháním. Z těchto nemocných je asi 55% pacientů na hemodialýze, 5% na peritoneální dialýze a 40% žije s funkčním transplantátem. To znamená, že kolem 4500 nemocných musí pravidelně docházet na střediska a třikrát týdně podstupovat několikahodinový proces na „umělé ledvině“. Taková metoda s sebou ovšem nese řadu omezení a možných komplikací, mezi které patří i riziko vzniku embolie nebo trombózy. Aby nedocházelo během hemodialýzy ke komplikacím, jako je tvorba trombů a následné zneprůchodnění mimotělního obvodu, je nutné sledovat srážecí parametry krve a podávat v dostatečné míře vhodná antikoagulantia, které tomu předchází. Jejich účinnost se sleduje měřením některého ze srážecích časů, které můžeme měřit více způsoby. Podstatné je, aby vyšetření splňovalo určité parametry, mezi které patří rychlost, přesnost, reprodukovatelnost a snadná proveditelnost. Tyto parametry splňuje například aktivovaný srážecí čas (ACT). Jedná se o hojně využívanou vyšetřovací metodu hlavně na hemodialyzačních střediscích. Dnes se v České republice k měření ACT používá koagulometr Hemochron 400/401, který by mohl být ale během několika příštích let nahrazen novým systémem Hemochron Jr. Signature+. Účelem této studie je včasné ověření nového systému a porovnání hodnot srážecích časů měřených oběma typy koagulometrů. Vzhledem k tomu, že lze očekávat postupný přechod na tento nový systém měření, zaměřili jsme se na korelaci Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature+, dále na reprodukovatelnost a také na použitelnost stávajícího jednoduchého modelu kinetiky heparinu u obou přístrojů, který se používá na hemodialyzačních střediscích ke stanovení potřebné dávky heparinu při hemodialýze.

[1]

2. Srážení krve

Srážení krve je soubor enzymatických reakcí, kterých se účastní celkem 13 faktorů. Jedná se o plazmatické proteiny, fosfolipidy, ionty a jejich výsledkem je přeměna tekuté krve v nerozpustný gel. Podstatou celého systému interakcí koagulačních faktorů (Tab. 2.1) je přeměna rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin. Hemokoagulace se může aktivovat dvěma cestami, vnějším a vnitřním

systémem. Rychlejší vnější systém začíná aktivací tkáňového tromboplastinu (faktor III). Pomalejší, vnitřní systém začíná aktivací faktoru XII uvnitř cév, bez poškození cévní stěny, například při kontaktu krve s cizím povrchem.

Označení	Název faktoru
Faktor I	Fibrinogen
Faktor II	Protrombin
Faktor III	tkáňový tromboplastin
Faktor IV	ionty Ca^{2+}
Faktor V	proakcelerin
Faktor VII	prokonvertin
Faktor VIII	antihemofilní globulin A
Faktor IX	antihemofilní globulin B (Christmasův faktor)
Faktor X	Stuartův-Prowerův faktor
Faktor XI	PTA (Plasma Thromboplastin Antecedent)
Faktor XII	Hagemanův faktor
Faktor XIII	fibrin stabilizující faktor (FSF)

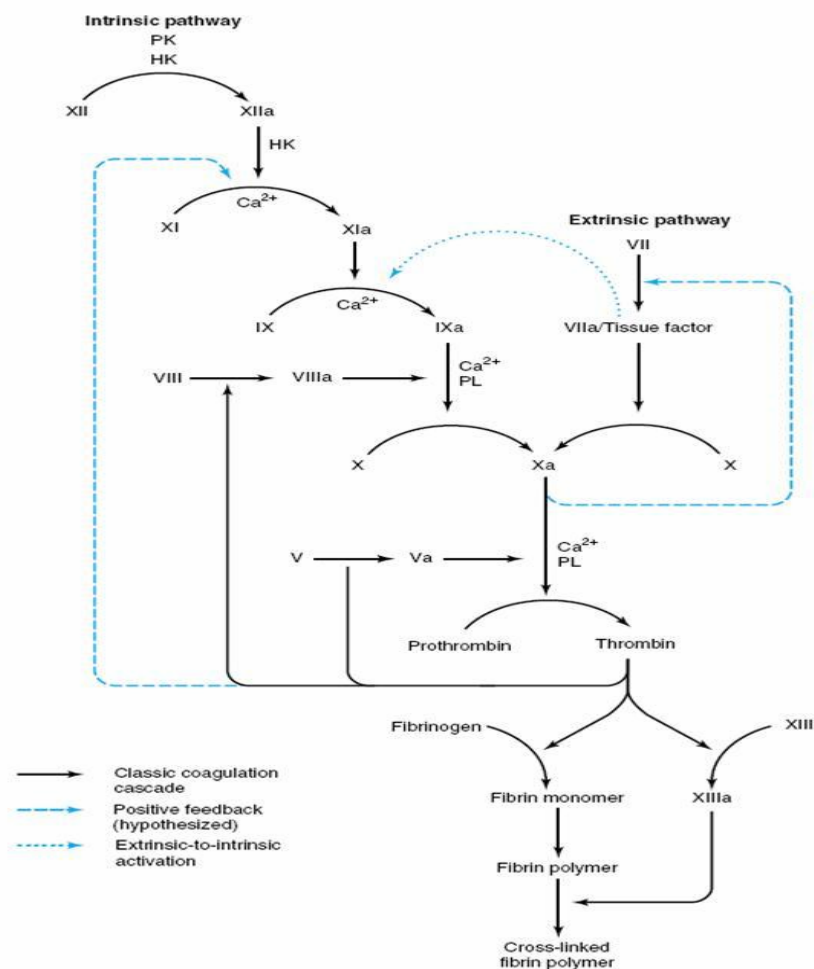
Tab. 2.1 *Přehled srážecích faktorů*

Srážení krve probíhá ve 3 fázích viz Obr. 2.1.

Výsledkem 1. fáze je tvorba aktivovaného komplexu protrombinu. Nejdůležitější složkou tohoto komplexu je faktor Xa. Aktivace faktoru X je první společnou reakcí vnitřní a zevní srážecí kaskády.

Ve 2. fázi je tvořena specifická proteáza – trombin. V krvi se vyskytuje v neaktivní formě protrombinu a faktor Xa je jediný známý enzym, který štěpí peptidické vazby protrombinu a přeměňuje ho na trombin.

Ve 3. fázi se zakončuje srážecí proces přeměnou rozpustného plazmatického proteinu fibrinogenu na nerozpustný polymerní fibrin. Trombin atakuje aminoterminální části α - a β -řetězců fibrinogenu a uvolňuje dvojici malých fibrinopeptidů A a B, čímž vzniká monomer fibrinu, který však ještě může depolymerovat. Jeho polymeraci na nerozpustnou sraženinu zajišťuje fibrin stabilizující faktor XIII, který se aktivuje vlivem trombinu za přítomnosti Ca^{2+} . [2, 3, 7]



Obr. 2.1 Sled dějů při srážení krve

3. Heparin

Heparin patří mezi základní antikoagulanty, díky kterým bylo možné zavést hemodialýzu a která jsou dodnes pro hemodialýzu nepostradatelná. Jedná se o sulfatovaný glykosaminoglykan, skládající se z nerozvětveného polysacharidového řetězu, vytvořeného z 15 až 100 střídavých monosacharidových jednotek, z L-glukuronové kyseliny a D-glukosaminu, o molekulové hmotnosti 3000 – 40000 daltonů. Od jeho objevení McLeanem v roce 1916 se stal heparin široce užívaným přípravkem zabráňujícím srážení krve. Získává se z vepřové a hovězí tkáně jako nefrakcionovaný heparin (unfractionated heparin, UFH). [3, 4, 5, 8]

Základem heparinového antikoagulačního účinku v plazmě je to, že váže antitrombin III (AT III), hlavní inhibitor koagulační kaskády v plazmě. Na tento komplex se váže trombin a další aktivované koagulační faktory IXa, Xa, XIa a XIIa. U navázaného trombinu je tím znemožněna vazba na fibrinogen, čímž se zabrání vzniku

fibrinu a fibrinové sítě. UFH působí inhibici faktoru IIa a Xa v poměru 1:1. Poločas je asi 1-2 hodiny při podkožním podání (s.c.) a biologická dostupnost při s.c. podání asi 15-30%.

Dnes se ale stále častěji používají nízkomolekulární hepariny (low molecular weight heparins - LMWH). Jsou to heterogenní směsi kratších heparinových řetězců, které vznikají chemickou depolymerací UFH s molekulovou hmotností 4000 – 8000 daltonů. Ten pro své nesporné výhody, spočívající ve větší bezpečnosti, lépe predikovatelném účinku a větším komfortu pro pacienty i personál, znamená značný přínos pro terapii. Působí podobně jako heparin prostřednictvím AT III, ale v závislosti na preparátu se inhibice faktoru IIa a Xa pohybuje od 1:1,9 až po cca 1:4,2 i více ve prospěch inaktivace faktoru Xa. Zkrácení a standardizace délky řetězce mělo za následek redukci nespecifické vazby heparinu na různé plazmatické proteiny, delší poločas, který je 3-10 hodin dle preparátu při podkožním podání, vyšší biologickou dostupnost, při s.c. podání 90-100% a také snížení vedlejších negativních účinků. Jeho nevýhodou je pozdější nástup účinku.[5, 6, 7, 8]

4. Měření srážlivosti krve

K bezpečnému řízení heparinizace je zapotřebí stanovit koncentraci heparinu v plazmě nebo nějakým způsobem zhodnotit účinek jeho podání. Přímé měření koncentrace v plazmě je ovšem problematické, jednodušší je měření jeho účinku. Toho docílíme měřením srážecího času, který je přímo úměrně prodloužen v závislosti na podané dávce heparinu. Taková měřicí metoda pro rutinní použití by měla splňovat tyto požadavky:

- 1) být časově nenáročná na provedení,
- 2) dostatečně rychlá při stanovení výsledků,
- 3) dávat reprodukovatelné výsledky s co nejvyšší přesností,
- 4) vyžadovat minimální množství vzorku,
- 5) minimalizovat kontakt personálu s krví.

Jedna z nejstarších metod stanovení srážecího času je Leeův-Whiteův srážecí čas (LWCT - Lee White Clotting Time), který se používal až do konce 70. let na hemodialyzačních střediscích ke stanovování dávek heparinu. Jeho principem je spuštění vnitřní srážecí kaskády stykem krve s cizím materiálem, jako je např. odběrová zkumavka, a sleduje se, za jak dlouho se vytvoří sraženina, což je

fyziologicky za 5-15 min. Předností tohoto testu pro použití při hemodialýze je, že postihuje celou vnitřní srážecí kaskádu. Ovšem srážecí časy při této metodě jsou příliš dlouhé na to, aby se dala efektivně řídit heparinizace při hemodialýze. Časy LWCT dosahují běžně u heparinizovaných pacientů 20 až 40 min, a proto bylo vyšetření nahrazeno aktivovaným srážecím časem. [9]

5. Aktivovaný srážecí čas (ACT – Activated Clotting Time)

Sledování antikoagulace během mimotělního oběhu je v dnešní době rutině založeno na testu ACT, který popsal již roku 1966 Hattersley. Vyšetření spočívá v měření času vzniku koagula, při kterém se opět testuje celá vnitřní kaskáda. Jedná se vlastně o urychlený test LWCT, kdy se v testovací zkumavce nachází velkoplošný neutrální aktivátor, který srážecí časy podstatně zkrátí. Přístroj obsahuje vždy časový obvod, který zaznamenává čas od okamžiku styku krve s aktivátorem až do vytvoření sraženiny. Její detekce se u jednotlivých typů přístrojů může lišit. Výsledky jsou udávány ve vteřinách a za fyziologické se považují časy od 110 do 180s v závislosti na aktivátoru. Prodloužení srážecího času může být způsobeno např. podáním heparinu nebo deficitem koagulačních faktorů. Výhody tohoto testu jsou:

- 1) lineární vztah mezi ACT a podanou dávkou,
- 2) test ACT testuje funkčnost celé vnitřní srážecí kaskády,
- 3) je nespecifický na heparin, tudíž lze upravovat dávky heparinu, i když je srážecí čas prodloužen podáním jiných farmak,
- 4) provádí se s plnou krví,
- 5) používají se jednorázové zkumavky nebo kyvety připravené od výrobce, které lze skladovat a kdykoli použít, vzhledem ke stabilní a neutrální povaze aktivátoru,
- 6) provedení testu je natolik krátké (minuty), že ho lze využít k efektivnímu řízení heparinizace,
- 7) samotné zařízení má vlastní napájení a je snadno přenosné.

[9]

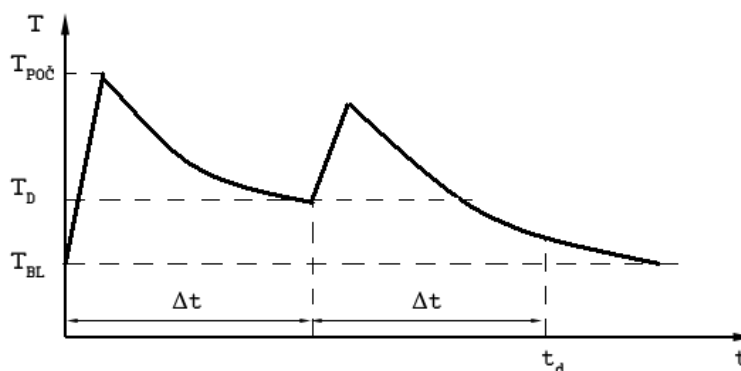
6. Způsoby heparinizace při hemodialýze

Heparinizace je nedílnou a důležitou součástí hemodialyzační léčby. Podáváním heparinu při hemodialýze zasahujeme přímo do dynamické rovnováhy fibrinogenního

a fibrinolytického systému. Množství podávaného heparinu je individuální, a proto je potřeba zvážit vyšší dávky. Při nižší dávce může dojít ke srážení krve v hemodialyzátoru, čímž by poklesla i účinnost dialýzy a mohlo by to vést až ke zvýšení tlaku v dialyzátoru na takovou hodnotu, při které dojde k ruptuře membrány. Naopak při vyšších dávkách je pacient ohrožen možností vzniku gastrointestinálního, subdurálního či jiného krvácení. Potřebná dávka je také do jisté míry závislá na materiálu membrány, průtoku krve dialyzátorem a parametrech samotného pacienta (citlivost na heparin a rychlost odbourávání heparinu).

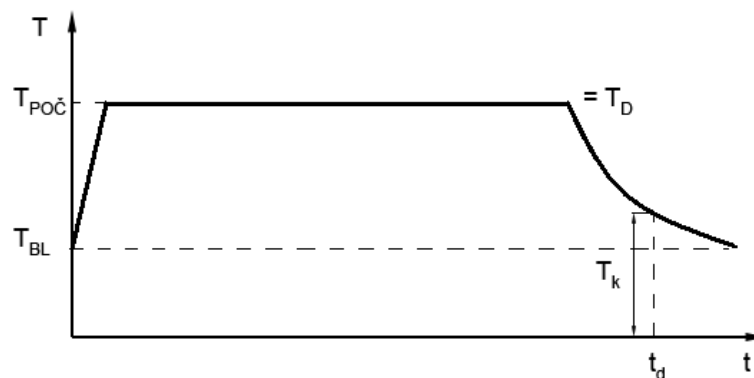
Heparinizaci dělíme z hlediska místa působení na systémovou nebo regionální a z hlediska dávkování na intermitentní, kontinuální a případně těsnou.

Dnes méně používaná metoda *intermitentní heparinizace* se vyznačuje podáváním dávek heparinu v pravidelných intervalech, nejčastěji na začátku a v polovině hemodialýzy. Výhodou této metody je především jednoduchost provedení. Nevýhodou je pravidelné kolísání srážecího času během dialýzy, vyšší pracnost, možnost opomenutí podání některé z dávek a také celkově vyšší nutná dávka heparinu.



Obr. 6.1 Průběh srážecích časů při intermitentní heparinizaci

Při dnes nejčastěji používané *kontinuální heparinizaci* je v optimálním případě po napojení na mimotělní obvod udržován srážecí čas na hodnotě T_D , na kterou se prodloužil po podání úvodní dávky. Během dialýzy je již heparin kontinuálně aplikován pomocí heparinové pumpy. Je-li přísun heparinu vyšší nebo nižší než je jeho inaktivace v organismu pacienta, dojde ke zvýšení či snížení srážecího času oproti hodnotě navozené úvodní dávkou a následnému ustálení na hodnotě, při které budou obě rychlosti vyrovnané.



Obr. 6.2 *Průběh srážecích časů při kontinuální heparinizaci*

Těsná heparinizace je podobná kontinuální, kdy jsou srážecí časy prodlouženy co nejméně nad výchozí hodnotu T_{BL} , aby byl pacient co nejméně zatěžován heparinem. Lze ji ovšem provádět i intermitentním způsobem, kdy jsou podávány malé dávky heparinu v krátkých časových intervalech (0,5 hod).

Regionální heparinizace se dnes používá pouze ojediněle. Teoreticky se prodlužuje srážecí čas pouze v mimotělním krevním obvodu, a proto je doporučována především u rizikových pacientů (po chirurgickém výkonu nebo pacienti s akutní vředovou chorobou). Princip této metody spočívá v podávání heparinu na vstupu do mimotělního obvodu a jeho následné inaktivaci protamin sulfátem na výstupu. Problém může nastat při nesprávném poměru obou pump (heparinové a protamin sulfátové). Dále je nebezpečí vzniku tzv. rebound-fenoménu, kdy může za 1–6 hodin po dialýze dojít k náhlému vzestupu srážecího času a následnému krvácení. Tento jev je způsoben různou rychlostí eliminace heparinu a protaminu. Protamin sulfát je eliminován rychleji a také má sám výrazný antikoagulační účinek. Jsou proto nezbytná častá měření srážecího času v systémovém i mimotělním obvodu. [9, 10]

7. Koagulometry

Jedná se o zařízení pro strojovou detekci vzniku sraženiny. V této práci se pracovalo s Hemochronem 400 a Hemochronem Jr. Signature+.

7.1 Hemochron 400/401

Tento přístroj (Obr. 7.1) se používá od počátku 80. let a je běžně k vidění na hemodialyzačních střediscích, kde slouží především k měření ACT a jehož

pomocí můžeme efektivně řídit heparinizaci. Vyrábí ho International Technidyne Corporation. K vyšetření je potřeba speciálních zkumavek na jedno použití, které jsou vyrobené z průhledného polystyrenu. Zkumavky, určené pro test ACT s označením P215, obsahují 50mg jemného skelného prachu jako aktivátor a malý válečkový magnet, který slouží k detekci sraženiny. V přístroji je šikmo uložená termostatová komůrka, která zajišťuje, aby byl váleček stále na nejnižším bodě zkumavky, a pomalu se otáčí. Principem metody je sledování vychýlení válečku uvnitř zkumavky, způsobené vznikem fibrinových vláken do polohy, kterou zaznamená magnetický snímač a test se ukončí. Komůrka pro zkumavku je po celou dobu testu přehřívána na $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Přístroj má vlastní zdroj napájení a na displeji zobrazuje čas v sekundách. Mimo testu ACT může Hemochron 400/401 měřit také aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT – Activated Partial Thromboplastin Time), protrombinový čas (PT – Prothrombin Time) a test dávkování protaminu (PDAO – Protamine Dose Assay), přičemž ke každému vyšetření je nezbytná speciální zkumavka určená pro daný test. [11]

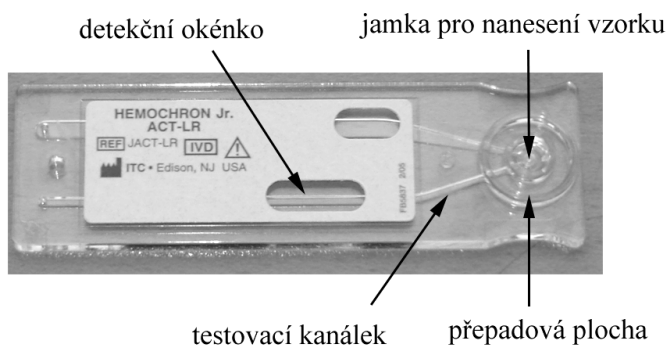


Obr. 7.1 *Hemochron 400*

7.2 Hemochron Jr. Signature+

Jedná se o nový typ mikrokoagulačního systému pro citrátovanou nebo plnou krev (Obr. 7.3). Vyrábí ho rovněž International Technidyne Corporation

(ICT). Distributorem pro ČR je Euromedical a pro dialyzační pracoviště ho dodává fa Fresenius. Systém je bateriově napájený a určený k použití s jednorázovými testovacími kyvetami, které dodává firma ITC. Každá kyveta obsahuje všechny reagensie potřebné k provedení daného testu. Kyvety pro ACT+ obsahují jako aktivátor směs siliky, kaolinu a fosfolipidů. Srážecí časy zde můžeme měřit až do 1005 sekund, protože test vykazuje linearitu při koncentracích heparinu od 1 do 6 jednotek/ml krve, a proto se používá především v kardiochirurgii při napojení na mimotělní oběh, kde srážecí časy mohou dosahovat velmi vysokých hodnot. U kyvet pro ACT-LR (Activated Clotting Time-Low Range) se používá celitový aktivátor vzhledem k jeho vysoké citlivosti na heparin. Test vykazuje linearitu při koncentracích až do 2,5 jednotek heparinu/ml krve, a proto se dají měřit srážecí časy pouze do 400 sekund, které ovšem při hemodialýze běžně postačují.



Obr. 7.2 Testovací kyveta pro test ACT-LR

Dále k přístroji existují kyvety pro měření aktivovaného parciálního tromboplastinového času (APTT) a protrombinového času (PT). Provedení celého testu je velmi jednoduché. Po přehřátí kyvety na $37 \pm 1^\circ\text{C}$ vydá přístroj zvukový signál, který vyzývá k aplikaci vzorku krve. Po aplikaci vzorku do jamky v kyvetě a stisknutí tlačítka START si přístroj natáhne 15 μl krve, který přesune do testovacího kanálku kyvety, kde se automaticky smíchá s reagensiemi. Zbytek krevního testu, který není zapotřebí, se automaticky odsaje z jamky pro vzorek do uzavřeného odpadního kanálku kyvety. Po smíchání s reagensiemi se vzorek pohybuje tam a zpět předem stanovenou rychlostí uvnitř testovacího kanálku, který se po celou dobu testu udržuje při

teplotě $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Rychlost posunu vzorku je monitorována řadou optických LED detektorů, které jsou uspořádány podél testovacího kanálku. Jakmile se krev srazí, dochází ke zhoršení průtoku krevního vzorku uvnitř testovacího kanálku a snižuje se rychlost průtoku mezi optickými detektory. Při snížení rychlosti pod předem stanovenou mez přístroj oznámí ukončení testu a výsledek se zobrazí na displeji v sekundách. Výsledek je možno automaticky vytisknout společně s datem a časem provedení testu, identifikačním číslem pacienta i operátora a jinými informacemi. Dále se zároveň ukládá v interní paměti, do které je možno uložit až 400 hodnot pro pozdější stažení nebo vtištění. Přístroj lze podle potřeby nastavit tak, aby ho mohli obsluhovat autorizovaní operátoři, nebo aby případně daní operátoři nemohli provádět určité funkce, například mazání výsledků z databáze přístroje. Tyto i jiné volby konfigurace se zadávají pomocí příslušného softwaru na osobním počítači, který je připojen ke koagulometru pomocí síťového kabelu. [12]



Obr. 7.3 *HemoChron Jr. Signature+*

8. Stanovení dávek heparinu

V rutinní praxi je dávkování heparinu nejčastěji empirické. Alternativně lze však pro dávkování heparinu použít i matematických vztahů na bázi kinetického modelu.

8.1 Empirické dávkování heparinu

Často se na dialyzačních pracovištích stanovují dávky heparinu odhadem dle zkušeností. Pro orientaci lze podle časů ACT považovat za bezpečné dávky prodloužení na 125-150% výchozí hodnoty. Tyto hodnoty mohou být ale na jednotlivých pracovištích odlišné.

Citlivost na heparin koreluje podle většiny autorů s tělesnou hmotností. Na základě toho dovolují data z velkých souborů zvolit pro první dialýzu úvodní dávku 25-30 IU/kg, podle některých zdrojů i 50 IU/kg, to znamená u člověka o hmotnosti 60kg 1500 až 1800 IU heparinu, a dále pokračovat kontinuální infúzí. Rychlost infuze lze nastavit na 500-1500 IU/hod. Podle výsledků srážecích časů se dávky pro další dialýzy upraví.

Pokud se zvolí těsná heparinizace, kdy je srážecí čas prodloužen co nejméně, například o 20-25% výchozí hodnoty, nasadí se úvodní dávka 10-25 IU/kg a pokračuje se kontinuální infúzí 200-300 IU/hod, podle některých zdrojů až 500 IU/hod. I zde se ale praxe na jednotlivých střediscích může lišit. [7, 10]

8.2 Model kinetiky heparinu

Tento model byl použit pro korekci některých hodnot a jako vedlejší cíl studie k prvnímu odhadu dávek heparinu pro převod pacientů z intermitentní heparinizace na kontinuální.

Kinetický model slouží pro objektivnější stanovení potřebné dávky heparinu u daného pacienta. Byl vytvořen za účelem individualizace dávky antikoagulancií při současné minimalizaci počtu nutných měření srážecího času během hemodialýzy v době, kdy se dávka heparinu určovala podle hmotnosti pacienta. Je založen na předpokladu, že:

1. kinetika heparinu je v těle pacienta lineární a rychlost jeho eliminace je přímo úměrná koncentraci v plazmě,
2. distribuční objem heparinu je roven objemu plazmy,
3. vztah mezi podanou dávkou heparinu a prodloužením srážecího času je lineární.

Vzhledem k obtížnosti stanovení koncentrace heparinu v plazmě se při platnosti podmínky 3 může vyjádřit jeho kinetika prostřednictvím prodlouženého srážecího času v závislosti na jeho podání. Na základě podmínek 1 a 2 je model kinetiky heparinu popsán jednoduchou diferenciální rovnicí

$$V \cdot \frac{\Delta c}{\Delta t} = I - R, \quad (1)$$

kde V je distribuční objem heparinu, c jeho koncentrace, I rychlost infuze a R jeho rychlost eliminace v organismu. Pro závislost srážecího času T na podané dávce heparinu platí vztah

$$T = T_{BL} + S \cdot m, \quad (2)$$

přičemž T_{BL} (v minutách) označuje srážecí čas před aplikací heparinu a m aplikované množství heparinu v IU. S je citlivost pacienta na heparin v min/IU.

Po podání m jednotek heparinu bude po jeho rozptýlení v plazmě

$$c = \frac{m}{V}, \quad (3)$$

kde V je objem plazmy. Sloučením rovnice 2 a 3 dostaneme

$$c = \frac{T - T_{BL}}{V \cdot S}. \quad (4)$$

Pro výpočet koncentrace musíme znát základní srážecí čas T_{BL} , citlivost na heparin S a množství podaného heparinu m . Citlivost S vyjadřuje, o kolik se prodlouží srážecí čas pacienta při podání 100 IU heparinu.

$$S = \frac{T_2 - T_1}{m}, \quad (5)$$

kde T_1 je čas před a T_2 po podání dávky m .

Pro rychlost odstraňování heparinu z organismu lze v soulase s prvním předpokladem psát

$$R = K \cdot c, \quad (6)$$

K je eliminační konstanta v ml/min a je pro každého pacienta jiná.

Po dosazení rovnice 4 a 6 do rovnice 1 dostáváme po úpravě základní rovnici pro výpočet srážecího času T v čase t v závislosti na rychlosti infuze I , eliminační konstantě K a objemu plazmy V :

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = S \cdot I - \frac{K}{V} \cdot (T - T_{BL}). \quad (7)$$

Při znalosti počáteční podmínky a průběhu infuze I lze rovnici 7 snadno řešit. Budeme-li předpokládat aplikaci m jednotek heparinu jako úvodní dávky, bude mít počáteční podmínka tvar

$$T_{(0)} = T_{POČ} = T_{BL} + S \cdot m. \quad (8)$$

V klinické praxi přicházejí v úvahu pro další výpočet pouze dvě situace.

Je-li po podání úvodní dávky rychlost další infuze konstantní, má řešení rovnice 7 při znalosti počáteční podmínky 8 tvar

$$T = e^{\left(-\frac{K}{V}t\right)} \cdot \underbrace{\left[T_{POČ} - \left(T_{BL} + SI \frac{V}{K}\right)\right]}_I + \underbrace{\left(T_{BL} + SI \frac{V}{K}\right)}_{II} \quad (9)$$

První člen rovnice představuje přechodové zvýšení nebo snížení T nad výchozí hodnotu $T_{poč}$ podle toho, zda bude rychlost infuze I větší nebo menší než je eliminace heparinu v okamžiku započetí infuze. Druhý člen udává hodnotu, na které se srážecí čas T po odeznění přechodové složky ustálí.

Pokud je však po úvodní dávce další infuze nulová, je řešení rovnice 7 jednodušší

$$T = (T_{POČ} - T_{BL}) \cdot e^{\left(-\frac{K}{V}t\right)} + T_{BL} \quad (10)$$

nebo po úpravě

$$T = T_{BL} + S \cdot m \cdot e^{\left(-\frac{K}{V}t\right)} \quad (11)$$

V tomto případě klesá srážecí čas exponenciálně z hodnoty $T_{POČ}$, na kterou vystoupil po aplikaci úvodní dávky, k hodnotě T_{BL} . Rychlost poklesu je dána poměrem eliminační konstanty a distribučního objemu heparinu, tj. objemu plazmy.

Výše uvedené vztahy lze použít pro výpočet jednotlivých dávek při heparinizaci.

U kontinuální heparinizace je potřeba stanovit počáteční dávku heparinu, která prodlouží srážecí čas T_{BL} na $T_D = T_{HD}$. Tu lze zjistit při znalosti pacientovi citlivosti S ze vztahu

$$m = \frac{T_{HD} - T_{BL}}{S} \quad (12)$$

Rychlost udržovací infuze lze zjistit z rovnice 7, dosadíme-li za $\Delta T/\Delta t=0$ a $T=T_{HD}$

$$I = \frac{K}{S \cdot V} \cdot (T_{HD} - T_{BL}) \quad (13)$$

Celkově dodané množství heparinu za dialýzu při spojitě heparinizaci je na základě rovnic 12, 13 a za předpokladu ukončení infuze až v okamžiku ukončení dialýzy možno psát ve tvaru

$$mt_d = m + It_d = \frac{T_{HD} - T_{BL}}{S} \cdot \left(1 + \frac{K}{V} \cdot t_d\right), \quad (14)$$

přičemž t_d značí čas trvání hemodialýzy. Vzorec pro výpočet doby, kdy je potřeba vypnout infúzi tak, aby v okamžiku ukončení dialýzy byl pacientův srážecí čas roven požadované hodnotě T_K , lze získat úpravou rovnice 10

$$t = \frac{1}{\frac{K}{V}} \cdot \ln \frac{T_{HD} - T_{BL}}{T_K - T_{BL}}. \quad (15)$$

V rovnici značí t dobu vypnutí infuze počítanou od konce dialýzy.

U intermitentní heparinizace je po úvodní dávce infuze nulová, a proto je možno použít rovnici 10, ve které má být pro $t=t_d/2$ (za předpokladu, že je heparin aplikován na začátku a v polovině dialýzy) $T=T_{HD}$. Odtud dostáváme

$$T_{POČ} = (T_{HD} - T_{BL}) \cdot e^{\frac{K}{V} \cdot \frac{t_d}{2}} + T_{BL}. \quad (16)$$

Vzájemnou kombinací rovnic 3, 4 a 16 obdržíme výraz pro hledanou úvodní dávku

$$m_1 = \frac{T_{HD} - T_{BL}}{S} \cdot e^{\frac{K}{V} \cdot \frac{t_d}{2}}. \quad (17)$$

Druhá dávka m_2 , aplikovaná v polovině dialýzy, musí způsobit nárůst T na stejnou hodnotu $T_{POČ}$, aby bylo na konci opět dosaženo T_{HD}

$$m_2 = \frac{T_{POČ} - T_{HD}}{S} = \frac{T_{HD} - T_{BL}}{S} \cdot \left(e^{\frac{K}{V} \cdot \frac{t_d}{2}} - 1\right). \quad (18)$$

Srovnání s rovnicí 17 dává po úpravě

$$m_2 = m_1 - \frac{T_{HD} - T_{BL}}{S}. \quad (19)$$

Celkově podané množství heparinu při intermitentní heparinizaci je

$$m_{id} = m_1 + m_2 = \frac{T_{HD} - T_{BL}}{S} \cdot \left(2 \cdot e^{\frac{K}{V} \cdot \frac{t_d}{2}} - 1\right). \quad (20)$$

Uvedené vzorce lze snadno upravit i pro výpočet dávek při jiném časovém rozvrhu (např. třikrát za dialýzu), případně vypočítat poslední dávku tak, aby hodnota T na konci dialýzy byla nižší než T_{HD} . [9]

9. Měření ACT s přístroji Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature+

Tato část popisuje vlastní měření a hodnocení výsledků ACT získaných pomocí dvou koagulometrů, Hemochronu 400/401 a Hemochronu Jr. Signature+.

9.1 Postup při měření, metodika

Měření se u všech pacientů provádělo vždy na obou koagulometrech. Ještě před podáním úvodní dávky heparinu a zahájením hemodialýzy se pacientovi odebral vzorek plné krve, který se přímo z odběrové stříkačky ihned aplikoval do předem připravené zkumavky a kyvety. U Hemochron 400/401 aplikujeme 0,5 ml krve do speciální plastové zkumavky se skelným aktivátorem, která se ihned vloží do předeřáté měřicí studny a spustí se test. Po sražení krve a vychýlení válečku se test ukončí a výsledná hodnota se zobrazí na displeji. Při testu si musíme dát pozor, aby byl veškerý aktivátor sklepaný na dně zkumavky, jinak by se snížila rychlost aktivace srážecí kaskády a výsledky by byly zkreslené. U Hemochron Jr. Signature+ se musí nejdříve nechat předeřát kyveta, v našem případě pro test ACT-LR, a po zvukovém signálu teprve aplikujeme kapku krve do jamky pro vzorek. Po stisknutí tlačítka START se spustí samotný test. Přístroj si sám natáhne potřebné množství krve do testovacího kanálu kyvety, kde se automaticky smíchá s reagensy. Zbytek krevního vzorku, který není zapotřebí k testování, se automaticky odsaje z jamky pro vzorek do uzavřeného odpadového kanálu kyvety. Při sražení krve v testovacím kanálku se test ukončí a zobrazí se výsledná hodnota.

Po stanovení základního srážecího času T_{BL} (base-line), se opakuje měření za 5 ($T_{POČ}$) a 90 minut (T_D) po podání úvodní dávky heparinu.

9.2 Výsledky měření

Všechna měření ACT byla provedena u pacientů, kteří jsou v chronickém dialyzačním programu. Z naměřených hodnot se u obou přístrojů (Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature+) stanovila reprodukovatelnost a na větší části hodnot vzájemná korelace obou strojů. Časy ACT, změřené pomocí Hemochronu Jr. Signature+, byly použity k ověření platnosti jednoduchého modelu kinetiky heparinu. U každého ze sledovaných pacientů byl stanoven

základní srážecí čas, citlivost na heparin, eliminační konstanta a vypočítána dávka heparinu pro intermitentní a kontinuální heparinizaci při hemodialýze. Data byla statisticky vyhodnocena. Veškeré naměřené hodnoty jsou uvedeny v příloze č. 1.

9.2.1 Reprodukovatelnost měření

Z naměřených hodnot se vyhodnocovala reprodukovatelnost měření, to znamená, jak moc se liší výsledky dvou měření získané z téhož vzorku krve a srovnávaly se časy ACT naměřené oběma přístroji. Vzhledem k tomu, že jsme měli k dispozici pouze jeden přístroj od každého typu, nebylo možné provádět zároveň dva testy ze stejného vzorku na každém typu přístroje. Proto byla provedena párová měření tak, že odběr a měření druhého vzorku následoval ihned po dokončení měření vzorku prvního. Párová měření srážecích časů byla provedena vždy před podáním úvodní dávky (T_{BL}) a dále po 5 (T_5) a 90 (T_{90}) minutách. Tím se pro účely hodnocení reprodukovatelnosti pokrylo široké rozmezí hodnot ACT. Jelikož časy ACT v 5 minutách po podání úvodní dávky heparinu rychle klesají, bylo nezbytné přepočítat hodnoty $T_{POČ}$ z času t_1 , získané z prvního vzorku, na hodnoty času t_2 , získané z druhého vzorku pomocí příslušného vzorce

$$T_{(t)} = T_{POČ} \cdot e^{(-K \cdot \Delta t)} + \left[\left(\frac{S \cdot I}{K} + T_{BL} \right) \cdot (1 - e^{(-K \cdot \Delta t)}) \right], \quad (21)$$

kde Δt je čas mezi měřeními prvního a druhého vzorku vyjádřený v sekundách, S je citlivost na heparin, I rychlost infuze ve stovkách IU, T_{BL} základní srážecí čas, $T_{POČ}$ koagulační čas po podání úvodní dávky heparinu a K rychlost inaktivace heparinu v organismu v hod^{-1} . Naproti tomu se srážecí časy T_{90} nabíraly v době, kdy je pokles ACT již velmi pomalý, a proto se ponechaly bez přepočítání.

Reprodukovatelnost se hodnotila na 44 párových měření pro každý z koagulometrů. Naměřené párové hodnoty pro Hemochron 400/401 jsou znázorněny v Tab. 9.1 a pro Hemochron Jr. Signature+ v Tab. 9.2. Ke všem 44 měřeními pro každý přístroj se vypočítala procentuální odchylka ΔT , vztažená na hodnotu 2. měření podle vzorce

$$\Delta T = \frac{T_1 - T_2}{T_2} \cdot 100 \quad (22)$$

a variační koeficient VC podle vzorce

$$VC = \frac{|T_1 - T_2|}{T_1 + T_2} \cdot 100 \quad (23)$$

V obou případech nám vyjdou výsledné hodnoty v procentech.

náběr1 [s]	náběr2 [s]	ΔT [%]	VC [%]
148	143	3,50	1,72
144	140	2,86	1,41
144	147	-2,04	1,03
145	125	16,00	7,41
207	199	4,02	1,97
143	142	0,70	0,35
144	140	2,86	1,41
145	129	12,40	5,84
129	122	5,74	2,79
162	151	7,28	3,51
159	147	8,16	3,92
121	152	-20,39	11,36
118	117	0,85	0,43
144	151	-4,64	2,37
137	144	-4,86	2,49
128	164	-21,95	12,33
234	233	0,31	0,16
188	181	3,64	1,79
199	200	-0,51	0,26
247	215	14,96	6,96
388	410	-5,40	2,78
179	198	-9,61	5,05
196	194	1,25	0,62
272	278	-2,19	1,11
215	217	-0,77	0,39
276	247	11,88	5,61
161	185	-13,05	6,98
262	312	-15,91	8,64
268	259	3,52	1,73
272	265	2,63	1,30
203	166	22,29	10,03
139	146	-4,79	2,46
160	157	1,91	0,95
176	187	-5,88	3,03
327	293	11,60	5,48
135	151	-10,60	5,59
178	166	7,23	3,49
200	213	-6,10	3,15
166	162	2,47	1,22
215	212	1,42	0,70
154	169	-8,88	4,64
210	182	15,38	7,14
192	189	1,59	0,79
218	176	23,86	10,66
Průměr		1,20	3,70

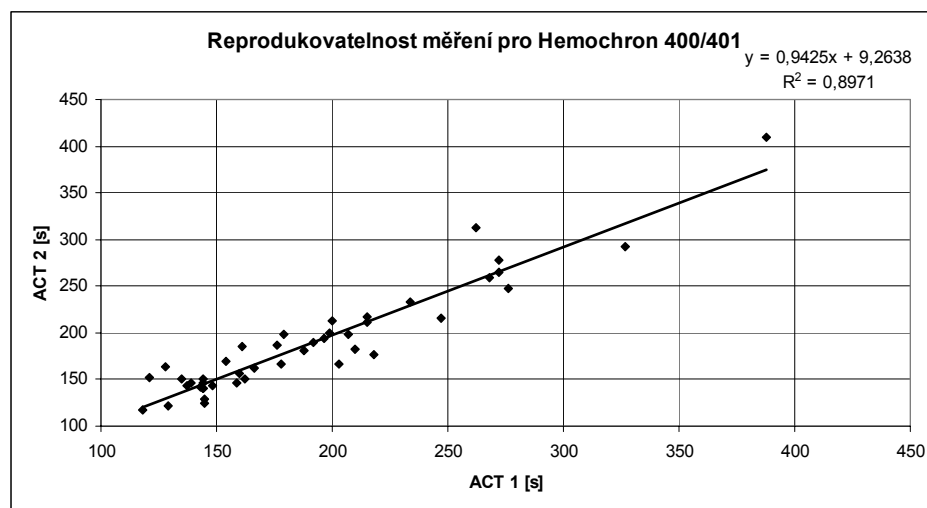
Tab. 9.1 Párová měření pro Hemochron 400/401

Vypočítaná průměrná hodnota ΔT je uvedená v posledním řádku tabulky, přičemž pro Hemochron 400/401 činí 1,2% (max. 23,86%) a pro Hemochron Jr. Signaturte+ 0,67% (max. 15,75%) a dále průměrná

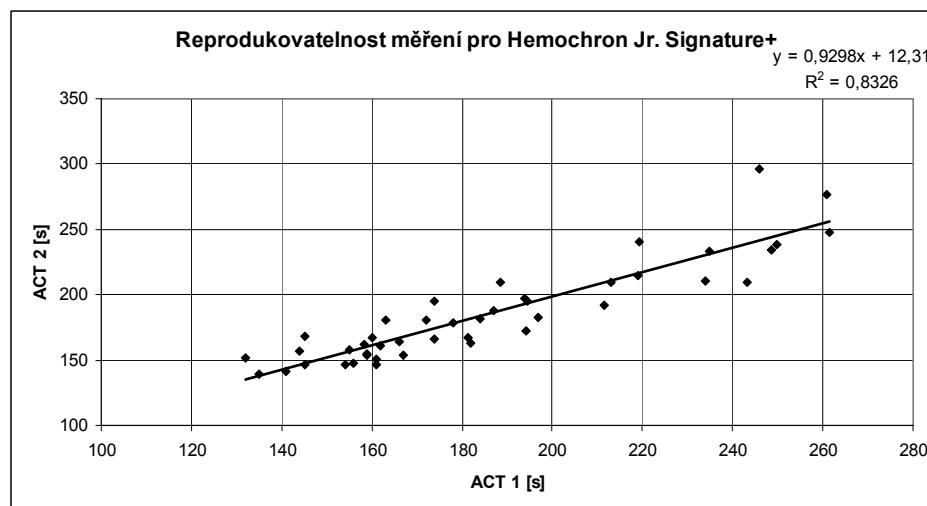
náběr1 [s]	náběr2 [s]	ΔT [%]	VC [%]
144	157	-8,28	4,32
156	148	5,41	2,63
145	168	-13,69	7,35
154	147	4,76	2,33
213	210	1,43	0,71
166	164	1,22	0,61
159	154	3,25	1,60
159	155	2,58	1,27
132	152	-13,16	7,04
141	141	0,00	0,00
135	139	-2,88	1,46
160	167	-4,19	2,14
174	166	4,82	2,35
161	151	6,62	3,21
155	158	-1,90	0,96
167	154	8,44	4,05
250	238	4,98	2,43
188	209	-9,86	5,18
194	195	-0,27	0,13
243	210	15,75	7,30
249	234	6,29	3,05
194	172	12,84	6,03
158	162	-2,34	1,19
181	167	8,51	4,08
219	240	-8,67	4,53
194	197	-1,53	0,77
261	277	-5,82	3,00
212	192	10,18	4,84
235	233	0,80	0,40
246	296	-16,96	9,27
262	248	5,46	2,66
174	195	-10,77	5,69
178	179	-0,56	0,28
163	181	-9,94	5,23
182	163	11,66	5,51
162	161	0,62	0,31
161	147	9,52	4,55
184	182	1,10	0,55
145	146	-0,68	0,34
187	188	-0,53	0,27
172	181	-4,97	2,55
219	215	1,86	0,92
197	183	7,65	3,68
234	211	10,90	5,17
Průměr		0,67	3,00

Tab. 9.2 Párová měření pro Hemochron Jr. Signature+

hodnota VC je pro Hemochron 400/401 3,7% (max. 12,33%) a pro Hemochron Jr. Signature+ 3% (max. 9,27%). To znamená, že reprodukovatelnost měření Hemochronu Jr. Signature+ je ve srovnání s Hemochronem 400/401 o něco lepší.



Graf 9.1 *Reprodukovatelnost měření pro hemochron 400/401*



Graf 9.2 *Reprodukovatelnost měření pro Hemochron Jr. Signature+*

Názornou představu o reprodukovatelnosti měření obou koagulometrů dávají korelační grafy, ve kterých jsou vyneseny výsledky párového měření. Graf 9.1 obsahuje data naměřené na koagulometru Hemochron 400/401 a Graf 9.2 na koagulometru Hemochron Jr. Signature+. Při

stanovení korelačního koeficientu pro každý z koagulometrů mezi výsledky zdvojeného měření jsme zjistili pro Hemochron 400/401 $r=0,947$ a pro Hemochron Jr. Signature+ $r=0,912$, v obou případech tedy velmi vysoký.

9.2.2 Vzájemná korelace

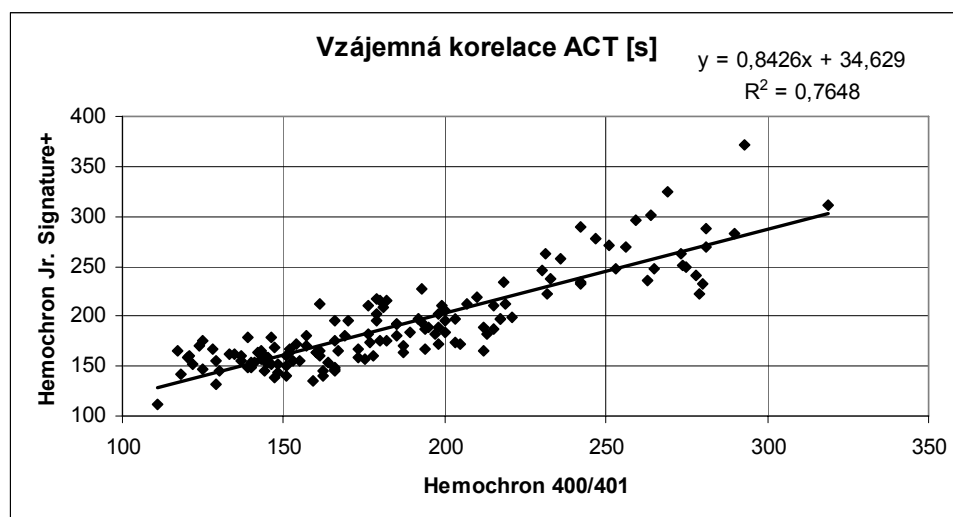
Pro stanovení korelace mezi Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature+ byla použita data ze 145 měření od každého přístroje viz Příloha č. 2. Evidentně chybná měření byla ze zpracování vyřazena. Hranicí pro přijetí byl brán rozdíl $<30\%$ mezi hodnotami změřenými ze stejného vzorku a vypočítaný pomocí rovnice 14. Každý vzorek byl měřen pro adekvátnost hodnocení na obou koagulometrech zároveň. Regresní analýzou (Graf 9.3) se zjistilo, že přímková závislost je

$$T^{\text{Jr.}} = 0,843 T^{400} + 34,63 ,$$

kde T^{400} vyjadřuje hodnoty zjištěné na přístroji Hemochron 400/401 a $T^{\text{Jr.}}$ jsou hodnoty získané Hemochronem Jr. Signature+. Při zpětné analýze téhož souboru hodnot vyšel vztah

$$T^{400} = 0,908 T^{\text{Jr.}} + 12,17 .$$

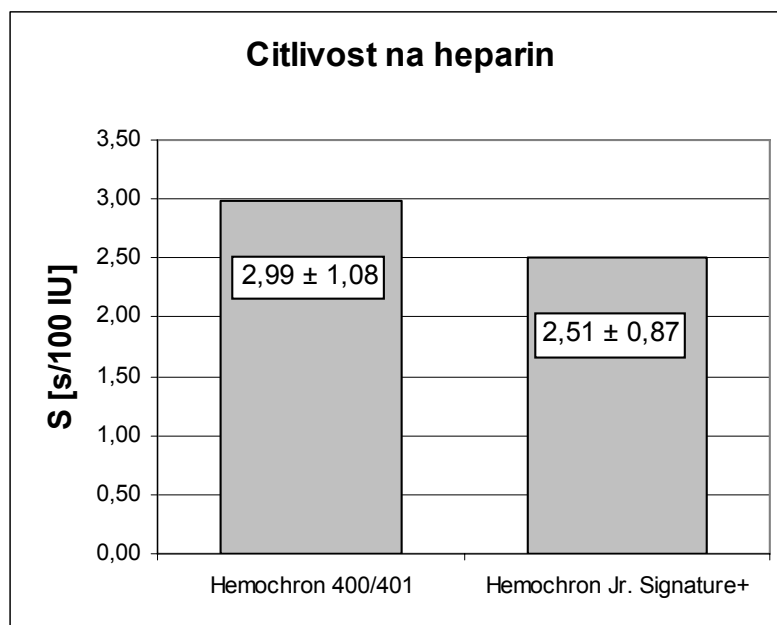
Při stanovení korelačního koeficientu vyšlo v obou případech $r=0,875$, což dokládá praktickou rovnocennost výsledků zjištěných oběma přístroji.



Graf 9.3 Korelace ACT časů mezi Hemochron 400/401 a Hemochron Jr. Signature+

9.2.3 Citlivost na heparin

Chceme-li měřením srážecího času efektivně řídit dávkování heparinu, zajímá nás především citlivost na heparin. Obecně se dá říci, že čím vyšší tím lepší. Už Graf 9.3 napovídal, že Hemochron Jr. Signature+ je o něco méně citlivý než Hemochron 400/401. Po stanovení průměru všech vypočítaných citlivostí se zjistilo (Graf 9.4), že pro Hemochron 400/401 vychází $2,99 \pm 1,08$ s/100IU a pro Hemochron Jr. Signature+ $2,51 \pm 0,87$ s/100IU, přestože se všechny vzorky měřily na obou koagulometrech zároveň. Výsledné časy ACT pod 200s vycházejí o něco vyšší u Hemochronu Jr. Signature+ než u Hemochronu 400/401, zatímco nad 200s je tomu naopak.



Graf 9.4 *Citlivost na heparin*

9.2.4 Koagulační parametry pacienta

V této části práce se stanovily koagulační parametry, ze kterých se dále počítalo dávkování heparinu. Přehled hodnot použitých pro výpočet parametrů jsou uvedeny v příloze 3.

Koagulační parametry jsou individuální a charakterizují pacienta. Patří mezi ně základní srážecí čas T_{BL} , citlivost na heparin S a eliminační konstanta K . Tyto parametry jsou nezbytné k tomu, abychom mohli

vypočítat dávky heparinu, rychlost infuzní pumpy nebo čas její vypnutí před koncem hemodialýzy.

Základní srážecí čas pacienta se zjistí jednoduše změřením ACT před podáním úvodní dávky heparinu.

Citlivost S vyjadřuje, o kolik se prodlouží srážecí čas pacienta při podání 100 IU heparinu.

$$S = \frac{T_{POČ} - T_{BL}}{m} \quad (24)$$

Ve vzorci značí T_{BL} srážecí čas před a $T_{POČ}$ asi 5 minut po aplikaci úvodní dávky heparinu a m je aplikované množství heparinu ve stovkách IU. Výsledek je vyjádřen v jednotkách s/100 IU.

Eliminační konstanta K , vyjádřená v hod^{-1} , udává rychlost inaktivace heparinu v organismu. Pro výpočet K u intermitentní heparinizace se použil vzorec

$$K = \frac{1}{\Delta t} \cdot \ln \frac{T_{POČ} - T_{BL}}{T_D - T_{BL}}, \quad (25)$$

kde Δt je doba měření koagulačního času T_D v hodinách od podání úvodní dávky heparinu, T_{BL} základní srážecí čas, $T_{POČ}$ srážecí čas zjištěný asi 5 minut po podání úvodní dávky a T_D je srážecí čas před podáním udržovací dávky, ale v našem případě již po 90 minutách.

U výpočtu K při kontinuální heparinizaci se dosadilo do vzorce

$$K = \frac{S \cdot I}{T_D - T_{BL}}, \quad (26)$$

přičemž S značí citlivost na heparin, I rychlost infuze, T_{BL} základní srážecí čas a T_D koagulační čas po jeho ustálení v organismu, v našem případě zjišťovaný po 90 minutách.

Koagulační parametry se počítaly u 36 pacientů, ale kvůli některým chybným měřením je nebylo možné stanovit u celého souboru nemocných. Z toho důvodu se vypočítaly jen u 33 nemocných pro Hemochron 400/401 (Tab. 9.3) a u 35 nemocných pro Hemochron Jr. Signature+ (Tab. 9.4).

Pacient	T_{BL} [s]	S [s/100 IU]	K [hod ⁻¹]
1	148	2,93	0,313
2	144	2,70	-----
3	144	2,95	1,475
4	145	2,40	0,832
5	207	3,74	0,286
6	143	2,18	-----
7	144	1,75	0,265
8	145	2,80	2,333
9	129	4,53	0,463
10	162	2,93	0,750
11	159	1,77	1,438
12	121	4,00	0,355
13	118	2,15	0,299
14	144	2,38	0,144
15	137	5,52	0,613
16	128	2,90	0,226
17	120	4,33	0,245
18	141	2,25	0,562
19	170	2,35	0,968
20	111	2,90	0,140
21	127	4,06	0,511
22	139	1,80	0,193
23	166	1,32	-----
24	157	2,96	0,835
25	152	2,68	0,156
26	124	2,62	0,484
27	146	1,95	0,443
28	153	4,15	1,196
29	160	5,70	0,518
30	137	4,09	0,864
31	143	2,20	-----
32	155	3,75	0,349
33	148	1,88	0,292
Průměr Směrodatná odchylka	144,5 ± 12,6 %	2,99 ± 36,2 %	0,532 ± 95,0 %

Tab. 9.3 *Srážecí parametry pro Hemochron 400/401*

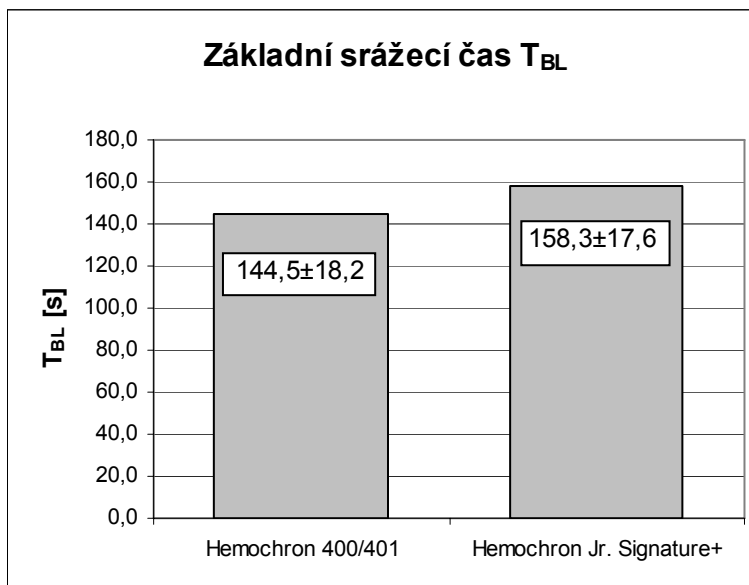
V posledním řádku je uvedena průměrná hodnota jednotlivých parametrů a pod ní směrodatná odchylka v procentech. Pro každý z koagulačních parametrů se také hodnotil korelační koeficient mezi oběma přístroji. U základního srážecího času T_{BL} činí jen $r=0,416$, u citlivosti S $r=0,685$ a u eliminační konstanty K $r=0,239$. Nedovedeme si moc dobře představit, proč je korelační koeficient pro T_{BL} tak nízký, když v celkovém hodnocení korelačního koeficientu, viz kapitola 9.2.2, jsme dosáhli dobrých výsledků. Pravděpodobně to bylo způsobeno malou množinou hodnot.

Pacient	T _{BL} [s]	S [s/100 IU]	K [hod ⁻¹]
1	144	3,80	0,890
2	156	1,65	1,125
3	145	2,60	1,156
4	154	2,09	0,807
5	213	3,74	-----
6	166	1,42	0,328
7	159	1,80	0,643
8	159	-----	0,500
9	132	3,33	0,575
10	141	2,03	0,422
11	135	1,83	1,224
12	160	2,73	0,930
13	174	1,90	1,357
14	161	1,48	0,102
15	155	3,80	0,544
16	167	1,90	0,199
17	166	1,96	1,670
18	159	2,27	0,850
19	154	2,73	0,358
20	145	3,00	0,835
21	195	2,65	2,647
22	112	3,14	0,167
23	187	3,94	0,809
24	148	1,87	0,329
25	149	1,48	-----
26	170	2,51	1,189
27	164	1,96	1,208
28	170	1,97	0,791
29	152	1,40	1,615
30	156	3,90	0,774
31	164	3,40	0,567
32	160	2,06	-----
33	162	2,82	1,470
34	156	4,45	0,387
35	152	1,60	0,267
Průměr	158,3	2,51	0,835
Směrodatná odchylka	± 11,1 %	± 34,6 %	± 64,8 %

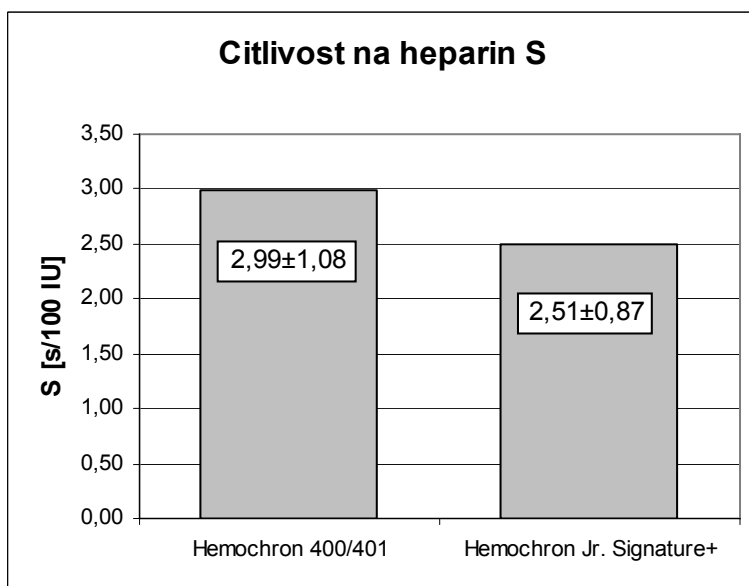
Tab. 9.4 *Srážecí parametry pro Hemochron Jr. Signature+*

Pro názornost jsou uvedeny v následujících třech grafech 9.1, 9.2 a 9.3 hodnoty jednotlivých parametrů pro oba přístroje, přičemž každý sloupec představuje průměrnou hodnotu pro daný parametr ± směrodatná odchylka. U grafu 9.5 si můžeme všimnout, že průměr základního srážecího času je pro Hemochron Jr. Signature+ vyšší než pro Hemochron 400/401, přestože se každý vzorek měřil na obou koagulometrech zároveň. To si vysvětlujeme tím, že hodnoty T_{BL}, ze kterých se stanovil průměr, jsou vždy nižší než 200s a to potvrzuje teorii,

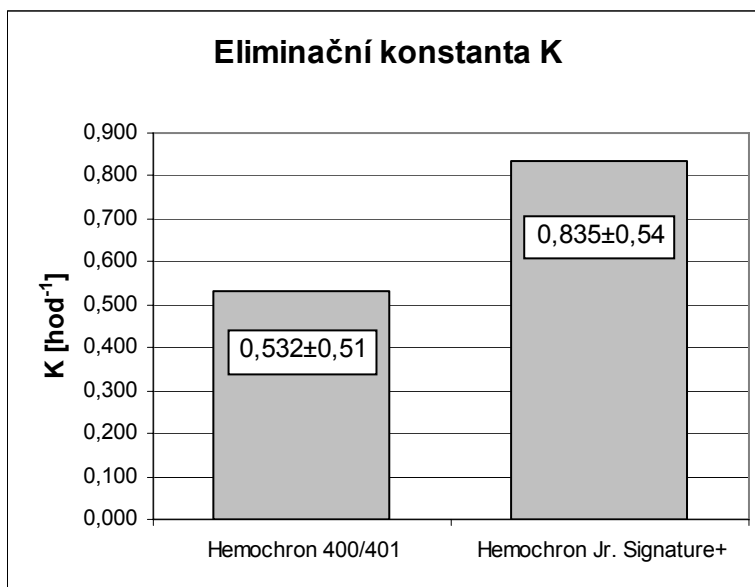
viz kapitola 9.2.3, že Hemochron Jr. Signature+ je pro srážecí časy pod 200s více citlivý než Hemochron 400/401 a pro časy nad 200s je tomu naopak.



Graf 9.5 Korelace základního srážecího času T_{BL}



Graf 9.6 Korelace citlivosti na heparin S



Graf 9.7 Korelace eliminační konstanty K

9.2.5 Dávkování heparinu na základě kinetických parametrů

Zjištěné hodnoty ACT byly použity, jako vedlejší cíl této práce, k přepočítání dávek heparinu pro intermitentní i kontinuální heparinizaci u pacientů s intermitentním dávkováním při hemodialýze. Nově vypočítané dávkování se stanovilo u 7 pacientů.

Při intermitentní heparinizaci je důležité, aby během dialýzy neklesl srážecí čas pod hodnotu T_D (Obr. 6.1), a proto je zapotřebí stanovit dostatečně velkou úvodní a udržovací dávku. Úvodní dávka m_{iv} se stanovila pomocí vzorce

$$m_{iv} = \frac{T_D - T_{BL}}{S} \cdot e^{(-K \cdot \Delta t)} \cdot 100, \quad (27)$$

kde Δt je doba mezi úvodní a udržovací dávkou, v našem případě polovina délky hemodialýzy v hodinách, a výsledná hodnota je vyjádřena v IU. Udržovací dávka m_u by měla být již o něco nižší, protože se snažíme o to, aby se srážecí čas při skončení dialýzy pohyboval na hodnotě T_K nižší než T_D a pacient mohl odcházet z dialýzy již s normálním srážecím časem. K výpočtu se použil vzorec

$$m_u = \frac{T_K - T_{BL}}{S} \cdot e^{(-K \cdot \Delta t)} - \frac{T_D - T_{BL}}{S} \cdot 100 \quad (28)$$

a výsledek je opět vyjádřen v IU.

V dnešní době se však směřuje k převodu pacientů na kontinuální heparinizaci (Obr. 6.2) pro její nesporné výhody. Při této metodě se aplikuje m_{iv} a tím se prodlouží srážecí čas na hodnotu $T_{POČ}$. Pokud by byla následně zvolena rychlost infuze tak, aby se $T_{POČ}=T_D$ bude tento čas udržován na hodnotě T_D téměř po celou dobu dialýzy. Teprve určitou dobu před koncem se odpojí infuze tak, aby srážecí čas pacienta byl na konci dialýzy na hodnotě T_K . Potřebná m_{iv} se určila pomocí vzorce

$$m_{iv} = \frac{T_D - T_{BL}}{S} \cdot 100 . \quad (29)$$

Pro zjištění rychlosti udržovací infuze v s/100 IU se počítalo

$$I = \frac{K}{S} \cdot (T_D - T_{BL}) \cdot 100 . \quad (30)$$

A nakonec čas vypnutí infuzní pumpy, díky kterému dosáhneme na konci dialýzy srážecího času T_K , se vypočte

$$t = \frac{1}{K} \cdot \ln \frac{T_D - T_{BL}}{T_K - T_{BL}} \quad (31)$$

a výsledek je vyjádřen v hodinách.

Pro vypočítání dávek u obou typů heparinizace byly předem stanoveny podmínky, že hodnota $T_D=1,1$ a $T_K=1,05$ násobek času T_{BL} . Po dosazení do rovnic 27 až 31 se získaly hodnoty uvedené v Tab. 9.5.

Pacient	Intermitentní heparinizace				Kontinuální heparinizace					
	H 400		H Jr.		H 400			H Jr.		
	m_{iv}	m_u	m_{iv}	m_u	m_{iv}	I	t_d	m_{iv}	I	t_d
1	3100	1100	2200	700	500	500	0,762	400	300	0,416
2	3200	1000	3700	2600	600	500	0,833	700	600	0,440
3	2500	700	1600	100	600	400	0,925	700	300	0,889
4	800	400	1200	200	200	200	1,130	400	200	0,650
5	900	400	2400	700	300	200	1,357	500	400	0,387
6	2800	1400	7300	3000	500	400	0,830	700	800	0,280
7	5400	2700	2300	700	400	400	0,580	400	300	0,455

Tab. 9.5 Dávkování heparinu

Jelikož se použily pro výpočet dávky heparinu hodnoty kouagulačních parametrů vypočtené z výsledků jednotlivých koagulometrů, jsou výsledné dávky u jednotlivých pacientů pro každý přístroj odlišné.

Nakonec se u předchozích 7 nemocných stanovila také celková dávka heparinu pro jednotlivé typy heparinizací viz Tab. 9.6.

Pacient	Intermitentní heparinizace		Kontinuální heparinizace	
	H 400	H Jr.	H 400	H Jr.
1	4200	3000	2000	1600
2	4200	6300	2200	2900
3	3200	1700	1800	1600
4	1300	1400	700	1200
5	1300	3100	700	1900
6	4200	10300	1900	3700
7	8200	3000	2100	1700
Průměr	3800	4114	1628	2086

Tab. 9.6 Celkové množství podaného heparinu při hemodialýze

U intermitentní heparinizace se jednoduše sečte počet všech aplikovaných dávek, v našem případě m_{iv} a m_u .

$$m_t = m_{iv} + \sum_{i=1}^n m_{ui} \quad (32)$$

Pro kontinuální heparinizaci se stanovilo celkové množství heparinu podle vzorce

$$m_t = m_{iv} + [I \cdot (t - t_d)] , \quad (33)$$

kde t je celková délka hemodialýzy v hodinách a t_d čas vyjadřující, jak dlouho před koncem dialýzy byla vypnuta infuzní pumpa.

Když se tedy pozorně podíváme do tabulky 9.6 zjistíme, že celkové množství podaného heparinu během hemodialýzy je u intermitentní heparinizace zhruba 2x větší než u heparinizace kontinuální, což je i jeden z důvodů, proč se pacienti postupně převádí právě na kontinuální heparinizaci.

10.Diskuse

Heparinizace je nezbytnou součástí každé hemodialýzy nebo metody, při které se užívá mimotělního oběhu. Pro její adekvátní řízení je zapotřebí vhodného testu, kterým můžeme hodnotit účinek dávky heparinu. Při nevhodném řízení heparinizace mohou snadno vzniknout komplikace, které by mohly vyústit až v ohrožení na životě pacienta, obzvláště v případech, kdy je nemocný po chirurgickém zákroku a riziko krvácení je zvýšené. Snadno a rychle se dá kontrolovat srážlivost krve pomocí ověřeného testu ACT. Jedná se o rychlou a přesnou metodu, kterou můžeme provádět přímo u lůžka pacienta. V dnešní době je na trhu hned několik přístrojů umožňující

měření testu ACT přímo na oddělení. V této studii jsme používali Hemochron 400/401, který je u nás velmi rozšířený, a novou verzi obdobného stroje Hemochron Jr. Signature+. U staršího Hemochron 400/401 se užívají zkumavky P215 s jemným velkoplošným aktivátorem, který se může snadno přichytit na stěny. To má za následek, že při vstříknutí vzorku nepříjde krev do styku s veškerým aktivátorem a výsledek je falešně prodloužen. Proto je nezbytné si dávat pozor, aby byl veškerý aktivátor důkladně sklepan na dně zkumavky. U nového Hemochron Jr. Signature+ je už tento problém vyřešen. Aktivátor je umístěn v testovacím kanálku, kterým vzorek neustále protéká, a proto zde nemůže obsluha ovlivnit styk s aktivátorem. Tyto kyvety se ale musí skladovat v chladničce, což je menší znevýhodnění oproti zkumavkám P215, které je možno skladovat při pokojové teplotě. Navíc kyvety ACT-LR mají omezení srážecích časů do 400s narozdíl od zkumavek P215. Nový Hemochron Jr. Signature+ s sebou přináší i spoustu dalších novinek, jako je archivace výsledků, možnost přímého tisku, propojení s počítačem a následným nakonfigurováním stroje pomocí speciálního softwaru. Do budoucna se pro tento stroj očekává i nová kyveta na měření srážecího času pro nízkomolekulární heparin. Co se týče samotného měření, je zde výhodou nemožnost spuštění testu, dokud není kyveta přehřátá na 37°C. V rámci vyhodnocování výsledků se vyřadily hodnoty, které nesplňovaly podmínku pro přijetí rozdíl <30% mezi dvojicí hodnot, protože se již pravděpodobně jednalo o chybná měření. Při vyhodnocení reprodukovatelnosti se stanovil variační koeficient, který vypovídá o velmi dobrém výsledku pro oba koagulometry, přičemž Hemochron Jr. Signature+ dosáhl o něco lepších výsledků viz kapitola 9.2.1. Vysoký korelační koeficient $r=0,875$ ukazuje na praktickou rovnocennost výsledků mezi přístroji. Při vyhodnocování srážecích časů se dále zjistilo, že výsledky ACT na Hemochronu 400/401 s P215 pod 200s nabývají na Hemochronu Jr. Signature+ při ACT-LR mírně vyšších hodnot a nad 200s naopak hodnot nižších. Z toho vyplývá, že Hemochron Jr. Signature+ je na heparin méně citlivý než Hemochron 400/401. Rozdílné koagulační parametry mezi jednotlivými pacienty ukazují na individualitu každého nemocného. Vyšší rozptyl eliminační konstanty K je do jisté míry způsoben výpočetní metodou, která je velmi citlivá na odchylky při měření. Nakonec se stanovila u 7 pacientů celková podaná dávka heparinu během hemodialýzy jak pro intermitentní tak pro kontinuální heparinizaci. Z výsledků je zřejmé, že při intermitentní heparinizaci dostane pacient zhruba dvojnásobnou dávku heparinu než při kontinuální, což je velmi podstatný rozdíl vzhledem k tomu, že nemocný musí na dialýzu docházet několikrát

týdně a heparin je nedílnou součástí terapie. Proto se dá označit za žádoucí převedení všech dialyzovaných pacientů na kontinuální heparinizaci.

11. Závěr

Cílem této studie bylo včasné ověření nového systému Hemochron Jr. Signature+ s testem ACT-LR a porovnání jednotlivých hodnot srážecích časů spolu s Hemochronem 400/401. Celkově se provedlo měření ACT u 36 pacientů. Z této množiny dat jsme měli možnost určit hned několik parametrů. Zjistilo se, že reprodukovatelnost obou zkoumaných přístrojů je vysoká, pro Hemochron 400/401, jak vypovídá tabulka 9.1, činí VC 3,7% a pro Hemochron Jr. Signature+, viz tabulka 9.2, je VC 3%. Dokonce zde lze očekávat i o něco lepší výsledky, jelikož se nepře počítaly párové hodnoty času ACT po 90 minutách, kdy srážecí čas mezi prvním a druhým odběrem také o něco poklesl. Velmi dobře dopadla i korelace mezi oběma koagulometry, jejíž hodnoty jednotlivých měření jsou znázorněny v grafu 9.3 a kde také vidíme jejich lineární závislost. Vysoký korelační koeficient $r=0,875$ nás informuje, že měření oběma přístroji je téměř rovnocenné. Ukázalo se také, že Hemochron Jr. Signature+ je na heparin o něco méně citlivý než Hemochron 400/401. Dále se pro ověření použitelnosti nového testu ACT-LR v jednoduchém modelu kinetiky heparinu stanovily u obou strojů koagulační parametry pacienta a vyhodnotil se jejich průměr i směrodatná odchylka v procentech. Při vyhodnocování se muselo u obou koagulometrů několik změřených časů ACT vyřadit, protože nesplňovaly předem stanovenou podmínku pro párové hodnoty rozdíl $<30\%$. Odlehle hodnoty mohly být způsobeny nedopatřením při měření, kdy se u Hemochronu 400/401 nesklepal všechen aktivátor na dno testovací zkumavky a výsledek byl tudíž falešně prodloužený. Nakonec se u pacientů na intermitentní heparinizaci provedlo přepočtení dávek jak pro intermitentní tak pro kontinuální heparinizaci a zároveň se určila celková podaná dávka heparinu během hemodialýzy. Výsledky nám potvrdily, že celková dávka u intermitentní heparinizace je asi 2x vyšší než u kontinuální. Při souhrnném hodnocení z výsledků studie vyplývá, že použitelnost starého a nového systému je zcela srovnatelná. Nový Hemochron Jr. Signature+ rozhodně nejeví tak velké výhody, aby to ospravedlnilo výrazně vyšší cenu kyvet. Začne-li ovšem výrobce dodávat kyvety pro měření srážecího času při použití frakcionovaného heparinu, získá nový Hemochron Signature+ velkou výhodu.

Použitá literatura

1. RYCHLÍK, I.; LOPOT, F. *Statistická ročenka dialyzační léčby v České republice 2005*. [3 snímky], Česká nefrologická společnost, [cit. 2007-04-29]. Dostupné na WWW:
<http://www.nefrol.cz/resources/upload/data/50_stat%2005%20p%F8ehled.pdf>.
2. TROJAN, S. a kol. *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada, 2003. ISBN 80-247-0512-5.
3. MURRAJ, K., R.; GRANNER, K., D.; MAYES, A., P.; RODWELL, W., V. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26th Ed., Large Medical Books/McGraw/Hill, 2003. ISBN 0-07-121766-5.
4. HYNIE, S. *Farmakologie v kostce*. Praha: Triton, 2001. ISBN 80-7254181-1.
5. HRABOŠ, V. *Nízkomolekulární hepariny a terapie akutních koronárních syndromů – současný stav*. Remedica, 2003;13:117-120. ISSN 0862-8947.
6. HORÁK, P. *Heparin a nízkomolekulární hepariny – srovnání*. [cit. 2007-04-29]. Dostupné na WWW: <<http://www.pace.cz/article.php?id=43>>.
7. FISCHER, KG. *Essentials of anticoagulation in hemodialysis*. Hemodialysis International 2007; 11:178–189.
8. SKOŘEPA, M. *Porovnání několika metodických postupů při sledování antikoagulační léčby vysokomolekulárním heparinem a jejich optimalizace*. Bakalářská práce, Univerzita Karlova v Praze, 1LF, 2005.
9. LOPOT, F. *Aplikace matematických modelů v dialyzační léčbě*. habilitační práce, 2000.
10. SULKOVÁ, S. a kol. *Hemodialýza*. Praha: Maxdorf, edice Jessenius, 2000. ISBN 80-85912-22-8.
11. *Hemochron[®], Blood Coagulation Timing Systems, Models 401 & 801, Operator's Manual*. International Technidyne Corporation (ITC).
12. *Hemochron[®] Jr. Signature+. Whole Blood Microcoagulation System, Operator's Manual*, International Technidyne Corporation (ITC), 2004.

Seznam příloh

Příloha č. 1 Tabulka všech naměřených hodnot

Příloha č. 2 Přehled párových hodnot ACT [s] použitých pro vyhodnocení korelace

Příloha č. 3 Přehled hodnot použitých pro výpočet koagulačních parametrů

Příloha č. 1

Tabulka všech naměřených hodnot

ID	Suchá váha [kg]	typ dialyzátoru	QB [ml/min]	Úvodní dávka [IU]	Infúze [IU/hod]	Naměřené časy ACT [s]				Naměřené časy ACT [s]				Přepočtení ACT [s]		Naměřené časy ACT [s]						Trvání HD	Stav dialyzátoru po HD
						před HD (před podáním heparinu)				5 minut po podání úvodní dávky				t1 na t2		po 90-100 minutách HD							
						náběr1 H 400	náběr1 H Jr	náběr2 H 400	náběr2 H Jr	náběr1 H 400	náběr1 H Jr	náběr2 H 400	náběr2 H Jr	čas mezi	náběr1 H 400	náběr1 H Jr	náběr1 H 400	náběr1 H Jr	náběr2 H 400	náběr2 H Jr	čas od ú.d.[min]	čas [hod]	
1	79,5	14L	350	3000		148	144	143	157	236	258	233	238	5	234	250	203	174	166	195	90	4	čistý
2	84	FX100	310	2000	1500	144	156	140	148	198	189	181	209	3	188	188	139	178	146	179	90	5	čistý
3	84	FX100	350	2000	800	144	145	147	168	203	197	200	195	4	199	194	160	163	157	181	90	5	čistý
4	87,5	HF80	400	4500		145	154	125	147	253	248	215	210	4	247	243	176	182	187	163	90	4	čistý
5	65,5	14L	320	5000		207	213	199	210	394	400	410	400	7	388		327	400	293	372	93	4	čistý
6	79	HF80	400	6000		143	166	142	164	274	251	242	234	5		249	82	218			90	4	čistý
7	88	HF80	400	2000	500	144	159	140	154	179	195	198	172	4	179	194	177	173	131	278	90	5	čistý
8	86	HF80	380	1000	500	145	159	129	155	173	158	133	162	3	174	158	135	162	151	161	90	4	čistý
9	62	14L	350	1500	500	129	132	122	152	197	182	194	167	4	196	181	178	161	166	147	90	4	částečně sražen
10	61,5	17L	350	4000		162	141	151	141	279	222	278	240	5	272	219	200	184	213	182	90	4	čistý
11	90,5	14L	350	3500		159	135	147	139	221	199	217	197	4	215	194	166	145	162	146	91	4	čistý
12	64,5	14L	350	4000		121	160	152	167	281	269	247	277	5	276	261	215	187	212	188	90	4	čistý
13	78,5	HF80	400	2000	500	118	174	117	166	161	212	185	192	4	161	212	154	172	169	181	90	4	čistý
14	53	14L	350	5000	400	144	161	151	151	263	235	312	233	5	262	235	210	219	182	215	92	4	čistý
15	56	14L	330	2500		137	155	144	158	275	250	259	296	5	268	246	192	197	189	183	90	4	čistý
16	70	14L	350	5000	700	128	167	164	154	273	262	265	248	5	272	262	218	234	176	211	91	4	čistý
17	68,5	17L	340	2500		161	166					180	215	[min]			187	170			90	4	čistý
18	61,5	FLX12GWS	350	1500	300	120	159					185	193				173	167			90	4	čistý
19	74,5	B257	350	4000		141	154					231	263				179	217			92	4	čistý
20	60,5	HF80	350	3500		130	145					98	250				180	175			90	4	čistý
21	73	14L	350	4000		170	195					264	301				192	197			90	4	čistý
22	100	21L	300	1000	200	226	167					161	161				118	142			90	4	sražen
23	82,5	14L	280	5000	400	111	112					256	269				194	187			91	4	čistý
24	49	14L	380	3500		127	187					269	325				193	228			90	4	čistý
25	58,5	HF80	350	1500	300	139	148					166	176				167	165			94	4	čistý
26	72	14L	330	5000		166	149					232	223				251	271			90	4	čistý
27	62,5	17L	360	4500		157	170					290	283				195	189			90	4	čistý
28	68,5	17L	350	2500		152	164					219	213				205	172			90	4	čistý
29	79	FX100	400	6000		124	170					281	288				200	206			90	4	čistý
30	84	FX100	330	2000	1500	146	152					185	180				212	165			90	5	čistý
31	74,5	14L	350	4000		153	156					319	312				179	203			93	4,5	čistý
32	66,5	14L	330	1000	200	160	164					217	198				182	176			92	4	čistý
33	75,5	14L	350	3500		137	160					280	232				175	157			92	4	čistý
34	86	21L	430	4500		143	162					242	289				125	176			90	4,5	čistý
35	57,5	Diacap.	350	2000	400	155	156					230	245				198	202			90	4	čistý
36	74	FDX120GW	330	5000	700	148	152					242	232				193	194			90	4	čistý

Příloha č. 2

Přehled párových hodnot ACT [s] použitých pro vyhodnocení korelace

H 400	H Jr	H 400	H Jr	H 400	H Jr	H 400	H Jr	H 400	H Jr
148	144	137	160	221	199	242	234	118	142
144	156	143	162	281	269	198	172	194	187
144	145	155	156	161	212	133	162	193	228
145	154	148	152	263	235	194	167	167	165
207	213	143	157	275	250	278	240	251	271
143	166	140	148	273	262	217	197	195	189
144	159	147	168	180	215	247	277	205	172
145	159	125	147	185	193	185	192	200	206
129	132	199	210	231	263	259	296	212	165
162	141	142	164	264	301	265	248	179	203
159	135	140	154	161	161	203	174	182	176
121	160	129	155	256	269	139	178	175	157
144	161	122	152	269	325	160	163	125	176
137	155	151	141	166	176	176	182	198	202
128	167	147	139	232	223	177	173	193	194
161	166	152	167	290	283	135	162	166	195
120	159	117	166	219	213	178	161	146	179
141	154	151	151	281	288	200	184	157	181
130	145	144	158	185	180	166	145	187	163
170	195	164	154	319	312	215	187	293	372
111	112	236	258	217	198	154	172	151	161
139	148	198	189	280	232	210	219	166	147
166	149	203	197	242	289	192	197	213	182
157	170	253	248	230	245	218	234	162	146
152	164	274	251	242	232	187	170	212	188
124	170	179	195	233	238	173	167	169	181
146	152	173	158	181	209	179	217	182	215
153	156	197	182	200	195	180	175	189	183
160	164	279	222	215	210	192	197	176	211

V přehledu nejsou uvedeny párové hodnoty, které nesplnily podmínku rozdíl <30% v páru a chybná měření označená červeně v příloze 1.

Příloha č. 3

Přehled hodnot použitých pro výpočet koagulačních parametrů

Pro Hemochron 400/401

ID	m [IU]	I [IU/hod]	T _{BL} [s]	T _{POČ} [s]	T _D [s]	t [min]
1	3000		148	236	203	90
2	2000	1500	144	198	139	90
3	2000	800	144	203	160	90
4	4500		145	253	176	90
5	5000		207	394	327	93
6	6000		143	274	82	90
7	2000	500	144	179	177	90
8	1000	500	145	173	135	90
9	1500	500	129	197	178	90
10	4000		162	279	200	90
11	3500		159	221	166	91
12	4000		121	281	215	90
13	2000	500	118	161	154	90
14	5000	400	144	263	210	92
15	2500		137	275	192	90
16	5000	700	128	273	218	91
17	1500	300	120	185	173	90
18	4000		141	231	179	92
19	4000		170	264	192	90
20	5000	400	111	256	194	91
21	3500		127	269	193	90
22	1500	300	139	166	167	94
23	5000		166	232	251	90
24	4500		157	290	195	90
25	2500		152	219	205	90
26	6000		124	281	200	90
27	2000	1500	146	185	212	90
28	4000		153	319	179	93
29	1000	200	160	217	182	92
30	3500		137	280	175	92
31	4500		143	242	125	90
32	2000	400	155	230	198	90
33	5000	700	148	242	193	90

Přehled hodnot použitých pro výpočet koagulačních parametrů

Pro Hemochron Jr. Signature+

ID	m [IU]	I [IU/hod]	T _{BL} [s]	T _{POČ} [s]	T _D [s]	t [min]
1	3000		144	258	174	90
2	2000	1500	156	189	178	90
3	2000	800	145	197	163	90
4	4500		154	248	182	90
5	5000		213	400	400	93
6	6000		166	251	218	90
7	2000	500	159	195	173	90
8	1000	500	159	158	162	90
9	1500	500	132	182	161	90
10	4000		141	222	184	90
11	3500		135	199	145	91
12	4000		160	269	187	90
13	2000	500	174	212	172	90
14	5000	400	161	235	219	92
15	2500		155	250	197	90
16	5000	700	167	262	234	91
17	2500		166	215	170	90
18	1500	300	159	193	167	90
19	4000		154	263	217	92
20	3500		145	250	175	90
21	4000		195	301	197	90
22	5000	400	112	269	187	91
23	3500		187	325	228	90
24	1500	300	148	176	165	94
25	5000		149	223	271	90
26	4500		170	283	189	90
27	2500		164	213	172	90
28	6000		170	288	206	90
29	2000	1500	152	180	165	90
30	4000		156	312	203	93
31	1000	200	164	198	176	92
32	3500		160	232	157	92
33	4500		162	289	176	90
34	2000	400	156	245	202	90
35	5000	700	152	232	194	90